

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 06-227967

(43)Date of publication of application : 16.08.1994

(51)Int.Cl.

A61K 9/14
A61K 47/34
A61K 49/00
A61K 49/04

(21)Application number : 05-282383

(71)Applicant : STERLING WINTHROP INC

(22)Date of filing : 11.11.1993

(72)Inventor : NA GEORGE C

RAJAGOPALAN NATARAJAN

(30)Priority

Priority number : 92 987904 Priority date : 04.12.1992 Priority country : US

(54) COMPOSITION CONTAINING NANO-PARTICLE AND ITS PRODUCTION

(57)Abstract:

PURPOSE: To provide a compsn. comprising nano-particles which can be sterilized in an autoclave.

CONSTITUTION: This compsn. consists of nano-particles on the surface of which a surface modifying agent is adsorbed and which include an anionic or cationic surfactant as a cloud point controlling agent in a combined state. This cloud point controlling agent is included in an enough amt. to increase the cloud point of the surface modifying agent.

(19)日本国特許庁 (JP)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平6-227967

(43)公開日 平成6年(1994)8月16日

(51)Int.Cl. ⁵	識別記号	序内整理番号	F I	技術表示箇所
A 61 K 9/14	Z 7329-4C			
47/34	D 7433-4C			
	Z 7433-4C			
49/00	A 9164-4C			
49/04	A 9164-4C			

審査請求 未請求 請求項の数14 O L (全 9 頁)

(21)出願番号	特願平5-282383	(71)出願人	591245646 スターリング ウィンスロップ インコーポレイティド アメリカ合衆国, ニューヨーク 10016, ニューヨーク, パーク アベニュー 90
(22)出願日	平成5年(1993)11月11日	(72)発明者	ジョージ シー. ナ アメリカ合衆国, ベンシルバニア 19034, フォート ワシントン, クロスピー ドライブ 1424
(31)優先権主張番号	987904	(72)発明者	ナタラジヤン ラジャゴバラン アメリカ合衆国, ベンシルバニア 19460, フェニックスビル, ギルフォード サークル 20
(32)優先日	1992年12月4日	(74)代理人	弁理士 宇井 正一 (外4名)
(33)優先権主張国	米国 (U.S.)		

(54)【発明の名称】 ナノ粒子を含む組成物及びその製造方法

(57)【要約】 (修正有)

【目的】 オートクレーブ滅菌可能なナノ粒子からなる組成物を提供する。

【構成】 表面改質剤が表面に吸着しており且つ疊点調節剤としてアニオン性またはカチオン性の界面活性剤が組み合わされて含まれているナノ粒子から構成される組成物である。疊点調節剤は、表面改質剤の疊点を上昇させるに十分な量で存在している。また、本発明は、該ナノ粒子の製造方法をも提供する。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 表面改質剤が表面に吸着しており且つアニオン性またはカチオン性の疊点調節剤が組み合わされて含まれているナノ粒子を含む組成物において、該疊点調節剤が表面改質剤の疊点を上昇させるに十分な量で存在している組成物。

【請求項2】 前記ナノ粒子が、診断用薬または治療薬を含有する、請求項1記載の組成物。

【請求項3】 前記表面改質剤がチロキサポールである、請求項1記載の組成物。

【請求項4】 前記診断用薬がエチル3, 5-ジアセトアミド-2, 4, 6-トリヨードベンゾエートである、請求項2記載の組成物。

【請求項5】 前記アニオン性疊点調節剤が、ドデシル硫酸ナトリウム、ジオクチルスルホスクシネート、タウロデオキシコレート及びオレイン酸ナトリウムから成る群より選ばれた、請求項1記載の組成物。

【請求項6】 前記カチオン性疊点調節剤が、ドデシルトリメチルアンモニウムプロミド及びテトラデシルトリメチルアンモニウムプロミドから成る群より選ばれた、請求項1記載の組成物。

【請求項7】 等張維持性化合物をさらに含む、請求項1記載の組成物。

【請求項8】 前記等張維持性化合物が、マンニトール及びデキストロースから成る群より選ばれた、請求項7記載の組成物。

【請求項9】 pH値維持性化合物をさらに含む、請求項1記載の組成物。

【請求項10】 前記pH値維持性化合物がリン酸ナトリウムである、請求項9記載の組成物。

【請求項11】 前記疊点調節剤が前記表面改質剤の疊点を、ナノ粒子の滅菌温度よりも上昇させる、請求項1記載の組成物。

【請求項12】 表面改質剤が表面に吸着しており且つアニオン性またはカチオン性の疊点調節剤が組み合わされて含まれているナノ粒子の製造方法において、前記ナノ粒子と疊点調節剤とを、表面改質剤の疊点を上昇させるに十分な時間及び条件下で接触させる工程を含む前記製造方法。

【請求項13】 前記ナノ粒子の滅菌工程をさらに含む、請求項12記載の方法。

【請求項14】 前記滅菌工程が蒸気加熱オートクレーブ滅菌法である、請求項13記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】 本発明は、疊点を調節した診断用または治療用の組成物に、またその製造方法に関する。

【0002】

【従来の技術及び発明が解決しようとする課題】 米国特許第5, 145, 684号明細書に記載されているナノ

粒子は、非架橋表面改質剤が表面に吸着している難溶性の治療薬または診断用薬から成る、平均粒径が約400ナノメートル(nm)未満の粒子である。

【0003】 その小さな粒径の結果、表面改質剤(界面活性剤)によって安定化されているナノ粒子状の治療薬や診断用薬の滅菌は困難である。メッシュサイズ0.22μmのフィルターを使用して濾過をすれば大部分の細菌やウイルスは十分に除去されるが、ナノ粒子は、その寸法のために、滅菌濾過を施すことができない。慣例の10 121℃でのオートクレーブ滅菌(蒸気加熱)では、実質的な凝集及び/または粒径の増加が起こり、得られる粒子は使用できないものになってしまいます。

【0004】 加熱時のナノ粒子の凝集は、表面改質剤(界面活性剤)が界面活性剤の疊点よりも高い温度において析出することに直接関係しており、そのような温度では、結合していた界面活性剤分子はナノ粒子から解離して析出しやすくなり、ナノ粒子は脱保護された状態に置かれてしまう。そうすると、脱保護されたナノ粒子は凝集して粒子塊を形成しうる。冷却時には、界面活性剤20は溶液中へ再溶解し、それが凝集粒子を被覆し、そして凝集粒子がより小さなものへと解離することを妨害してしまう。

【0005】 本発明は、粒径増加を低減または皆無にしたナノ粒子のオートクレーブ滅菌を可能にする新規組成物に関する。これらの組成物は、ナノ粒子表面に吸着する界面活性剤を変性して、ナノ粒子がオートクレーブ滅菌の際に凝集しないようにする。本発明はまた、このような組成物の製造方法にも関する。

【0006】

30 【課題を解決するための手段】 本発明は、表面改質剤が表面に吸着しており且つ疊点調節剤としてアニオン性またはカチオン性の界面活性剤が組み合わされて含まれているナノ粒子から構成される組成物であって、該疊点調節剤が表面改質剤の疊点を上昇させるに十分な量で存在している組成物に関する。

【0007】 本発明は、表面改質剤が表面に吸着しており且つ疊点調節剤としてアニオン性またはカチオン性の界面活性剤が組み合わされて含まれているナノ粒子の製造方法であって、前記ナノ粒子と該疊点調節剤とを、該表面改質剤の疊点を上昇させるに十分な時間及び条件下で接触させる工程を含む製造方法についても開示する。

【0008】 本発明は、表面改質剤が表面に吸着しており且つ疊点調節剤としてアニオン性またはカチオン性の界面活性剤が組み合わされて含まれているナノ粒子から構成される組成物であって、該疊点調節剤が表面改質剤の疊点を上昇させるに十分な量で存在している組成物に関する。好ましい実施態様では、表面改質剤の疊点はナノ粒子のオートクレーブ滅菌温度よりも高い温度へ上昇するので、凝集が防止される。

50 【0009】 本発明の実施において有用なナノ粒子は表

面改質剤を含む。本発明において有用な表面改質剤は、X線造影剤の表面に物理的に吸着するが、該剤またはそれ自身と化学的に反応することはない。表面改質剤の個々の吸着分子は、本質的には分子間架橋を含まない。適当な表面改質剤は、既知の有機及び無機の医薬品用賦形剤、例えば各種ポリマー、低分子量オリゴマー、天然物及び界面活性剤の中から選ぶことができる。好ましい表面改質剤には、非イオン性及びアニオン性の界面活性剤が含まれる。

【0010】表面改質剤の代表例として、ゼラチン、カゼイン、レシチン（ホスファチド）、アラビアゴム、コレステロール、トラガカント、ステアリン酸、ベンザルコニウム塩化物、ステアリン酸カルシウム、グリセリルモノステアレート、セトステアリルアルコール、セトマクロゴール乳化ワックス、ソルビタンエステル、ポリオキシエチレンアルキルエーテル、例えば、マクロゴールエーテル、例えばセトマクロゴール1000、ポリオキシエチレンヒマシ油誘導体、ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステル、例えば、市販のTween（商品名）系列、ポリエチレングリコール、ポリオキシエチレンステアレート、コロイド二酸化珪素、ホスフェート、ドデシル硫酸ナトリウム、カルボキシメチセルロースカルシウム、カルボキシメチセルロースナトリウム、メチセルロース、ヒドロキシエチセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチセルロースフタレート、非晶質セルロース、マグネシウムアルミニウムシリケート、トリエタノールアミン、ポリビニルアルコール、及びポリビニルピロリドン（PVP）が挙げられる。これらの表面改質剤の大部分は既知の医薬用賦形剤であり、また米国医薬品協会（American Pharmaceutical Association）及び英国の医薬品協会（Pharmaceutical Society）が共同出版したHandbook of Pharmaceutical Excipients（Pharmaceutical Press, 1986）に詳しく記載されている。

【0011】特に好ましい表面改質剤には、ポリビニルピロリドン、チロキサポール、Pluronic（商品名）F68及びF108のような酸化エチレンと酸化ブロピレンとのブロックコポリマーであるポロクサマー、Tetronic（商品名）908（Poloxamine 908としても知られている）のようなBASFから市販されている酸化ブロピレンと酸化エチレンとをエチレンジアミンへ逐次付加して得られる四官能性ブロックコポリマーであるポロクサミン、デキストラン、レシチン、スルホコハク酸ナトリウムのジアルキルエステル、例えば、American Cyanamideから市販されているスルホコハク酸ナトリウムのジオクチルエステルであるAerosol OT（商品名）、DuPontから市販されているラウリル硫酸ナトリウム

であるDuponol（商品名）P、Roehm and Haasから市販されているアルキルアリールポリエーテルスルホネットであるTriton（商品名）X-200、ICI Specialty Chemicalsから市販されているポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステルであるTween 80、並びにUnion Carbideから市販されているポリエチレングリコールであるCarbowax（商品名）3350及び934、が含まれる。特に有用であることがわかっている表面改質剤には、Tetronic 908、Tween（商品名）系列、Pluronic F-68及びポリビニルピロリドンが含まれる。その他の有用な表面改質剤には、デカノイル-N-メチルグルカミド、n-デシル β-D-グルコピラノシド、n-デシル β-D-グルコピラノシド、n-ドデシル β-D-マルトシド、ヘプタノイル-N-メチルグルカミド、n-ヘプチル β-D-グルコピラノシド、n-ヘプチル β-D-チオグルコシド、n-ヘキシル β-D-グルコピラノシド、ノナノイル-N-メチルグルカミド、n-ノニル β-D-グルコピラノシド、オクタノイル-N-メチルグルカミド、n-オクチル β-D-グルコピラノシド、オクチル β-D-チオグルコピラノシド、等が含まれる。

【0012】本発明に有用な表面改質剤はチロキサポール（アルキルアリールポリエーテルアルコール型の非イオン性液状ポリマー；スペリノンまたはトリトンとしても知られている）である。

【0013】表面改質剤は、市販されているか、及び／または、当該技術分野で知られている技法によって調製することができる。

【0014】本発明の実施において有用なナノ粒子は、米国特許第5,145,684号明細書に従って調製することができる。簡単に述べると、難溶性の治療薬または診断用薬を液状分散媒中に分散させ、そしてその薬剤を磨碎媒体の存在下で湿式磨碎して、造影剤の粒径を約400nm未満の有効平均粒径へ低減させる方法でナノ粒子を調製する。粒径の低減を表面改質剤の存在下で行ってもよい。

【0015】本発明の実施において有用な粒子を調製する一般手順は以下のとおりである。選定する治療薬または診断用薬は、従来の粗大形態において、上記のように当該技術分野で知られている技法によって調製するか、または市販されている。選定した粗い治療または診断用物質の粒径が篩分け試験で測定して約100μm未満であることが本質的ではないが好ましい。該薬剤の粗大粒径が約100μmよりも大きい場合には、治療薬または診断用薬の粗大粒径を、エアジェットや破碎ミリングのような従来の微粉砕法によって100μm未満の寸法へ低下させることが好ましい。

【0016】次いで、選定した粗大治療薬または診断用薬を、それが本質的に不溶性である液状媒体へ添加して、予備混合物を形成させる。液状媒体中の治療薬または診断用薬の濃度は、約0.1～6.0% (w/w)、好ましくは5～30% (w/w) の範囲をとることができる。予備混合物中に表面改質剤を存在させることは、本質的ではないが好ましい。表面改質剤の濃度は、薬剤物質と表面改質剤との合計重量に対して、約0.1～9.0重量%、好ましくは1～7.5重量%、より好ましくは1.0～6.0重量%、最も好ましくは1.0～3.0重量%の範囲をとることができる。予備混合物懸濁剤の見掛けの粘度は、約1000センチポイズよりも低いことが好ましい。

【0017】この予備混合物を湿式磨碎に直接使用して、分散体における平均粒径を400nm未満に低下させることができる。磨碎にボールミルを使用する場合は、予備混合物を直接使用することが好ましい。別法として、治療薬または診断用薬及び任意ではあるが表面改質剤を、適当な攪拌手段、例えばローラーミルやCowles型ミキサーによって、肉眼では大きな凝集体は見られない均質分散液が得られるまで、液状媒体中で分散させてもよい。磨碎に循環媒体ミルを使用する場合は、予備混合物にこのような予備微粉碎分散工程を施すことが好ましい。

【0018】湿式磨碎は、例えばボールミル、アトリッターミル、振動ミル及びサンドミルやビーズミルのような媒体ミルをはじめとする適当ないずれの分散ミルにおいて行ってもよい。所期の結果、すなわち所望の粒径低減を得るのに要する微粉碎時間が比較的短いので、媒体ミルが好ましい。媒体ミル粉碎では、予備混合物の見掛けの粘度は約100～約1000センチポイズである。ボールミル粉碎では、予備混合物の見掛けの粘度は約1～約100センチポイズである。このような範囲は、効率的な粒子破碎と媒体浸食との最適バランスを提供しやすい。

【0019】粒径低減工程用の磨碎媒体は、平均粒径が約3mm未満、好ましくは約1mm未満の好ましくは球形または粒状の硬質媒体から選択することができる。このような媒体は、より短時間の処理時間で本発明の粒子を提供でき、しかも微粉碎装置に与える摩擦が少ないことが望ましい。磨碎媒体用の物質を選択することは重要ではないと考えられる。しかしながら、好ましい媒体は、約3g/cm³よりも高い密度を有する。酸化ジルコニウム、例えばマグネシアで安定化した9.5%ZrO、ジルコニウムシリケート及びガラス磨碎媒体は、治療用または診断用組成物の調製物として許容できると考えられるレベルの汚染を含む粒子を提供する。しかしながら、他の媒体、例えばステンレススチール、チタニア、アルミナ及び(イットリウムで安定化した)9.5%ZrOも有用であると考えられる。

【0020】磨碎時間は、幅広く変化しうり、主に選定した特定の湿式磨碎ミルに依存する。ボールミルには、5日間またはそれ以上長期の処理時間が必要となる場合がある。一方で、高剪断力の媒体ミルを使用すると、1日未満の処理時間(滞留時間は約1分～数時間)で所望の結果が得られる。

【0021】治療薬や診断用薬を著しく劣化させることのない温度で粒子の粒径を低減しなければならない。通常は、約30～40°C未満の処理温度が好ましい。所望であれば、処理装置を従来の冷却装置によって冷却してもよい。この方法は、従来より、微粉碎処理に有効で且つ安全な処理圧及び周囲温度の条件下で実施されている。例えば、ボールミル、アトリッターミル及び振動ミルでは周囲処理圧が典型的である。媒体ミルでは約20psi (1.4kg/cm²)以下の処理圧が典型的である。

【0022】表面改質剤は、予備混合物中に存在させない場合には、予備混合物について記載した量で磨碎後の分散液に添加することができる。その後、その分散液を、例えば激しく振る方法によって、混合することができる。任意ではあるが、例えば超音波電源を用いて音波処理を分散液に施してもよい。例えば、分散液に、周波数20～80kHzの超音波エネルギーを約1～120秒間施してもよい。

【0023】治療薬または診断用薬と表面改質剤との相対量は、幅広く変化しうり、また表面改質剤の最適量は、例えば、選定した特定の治療薬または診断用薬及び表面改質剤に、ミセルを形成する場合には表面改質剤の臨界ミセル濃度に、安定剤の親水性-親油性バランス (HLB) に、安定剤の融点に、その水溶性に、安定剤水溶液の表面張力に、等に依存しうる。表面改質剤は、治療薬または診断用薬の表面積1平方メートル当たり約0.1～1.0mgの量で存在することができる。表面改質剤は、乾燥粒子の全重量に対して、0.1～9.0重量%、好ましくは1～7.5重量%、より好ましくは1.0～6.0重量%、最も好ましくは1.0～3.0重量%の量で存在することができる。

【0024】本発明の組成物に有用な治療薬及び診断用薬には、米国特許第5,145,684号明細書及び欧洲特許出願第498,482号明細書(本明細書ではその開示を参照することによって取り入れる)に記載されている薬剤が含まれる。好ましい診断用薬は、X線造影剤のWIN-8883(エチル3,5-ジアセトアミド-2,4,6-トリヨードベンゾエート)である。

【0025】本明細書で用いられているように、粒径とは、当業者にはよく知られている従来の粒径測定技法、例えば沈降場流動分画法、光子相關分光光度法またはディスク遠心分離法によって測定した数平均粒径をさす。「約400nm未満の有効平均粒径」とは、上記の技法によって測定した場合に粒子の90%以上が約400n

m未満の重量平均粒径を示すことを意味する。本発明の好ましい実施態様では、有効平均粒径は約300nm未満であり、またより好ましくは約250nm未満である。本発明の実施態様の一部では、約200nm未満の有効平均粒径が実現している。有効平均粒径に関しては、好ましくは少なくとも95%、またより好ましくは少なくとも99%の粒子が有効平均粒径、例えば400nm未満の粒径を示す。特に好ましい実施態様では、本質的にすべての粒子が400nm未満の粒径を示す。一部の実施態様では、本質的にすべての粒子が250nm未満の粒径を示す。

【0026】本発明によるナノ粒子組成物の製造方法には、治療薬または診断用薬、液状媒体、磨碎媒体及び任意に表面改質剤を磨碎容器へ導入する工程と、治療薬または診断用薬の粒径を約400nm未満へ低減させるための湿式磨碎工程と、粒子及び任意に液状媒体を磨碎容器及び磨碎媒体から、例えば吸引、濾過または蒸発によって分離する工程とが含まれる。湿式磨碎工程中に表面改質剤を存在させない場合には、それを該工程後に粒子と混合することができる。液状媒体は、たいていは水であるが、医薬品的に許容できるキャリヤーとして役立つことができる。この方法は、無菌条件下で実施することが好ましい。その後、好ましくはナノ粒子組成物に滅菌処理を施す。

【0027】本明細書の別の箇所に記載したように、滅菌濾過ではナノ粒子を十分に滅菌することができない。それゆえ、その他の滅菌方法が必要である。例えば、約121℃の温度で約15分間施す蒸気または湿熱滅菌を採用することができる。海拔付近では、大気圧よりも15ポンド/平方インチ(psi)高い圧力で蒸気を使用すればこのような状態が得られる。

【0028】乾熱滅菌を施してもよいが、乾熱滅菌は、160℃の温度で1~2時間行うことが典型的である。

【0029】滅菌処理は、滅菌工程中の粒径増加を最小限に抑えるイオン性疊点調節剤、例えばアニオニン界面活性剤〔例、ドデシル硫酸ナトリウム(SDS)、カブロン酸、カブリル酸、ジオクチルスルホスクシネット(DOSS)及びオレイン酸ナトリウム〕またはカチオニン界面活性剤〔例、ドデシルトリメチルアンモニウムプロミド(DTAB)及びセトリミドとして知られているテトラデシルトリメチルアンモニウムプロミド(TTAB)〕の存在下で行う。

【0030】疊点は、上記のように表面改質剤(界面活性剤)が溶液から析出する温度である。用語「疊点調節剤」とは、表面改質剤の疊点に影響を及ぼす化合物を意味する。詳細には、本発明に有用な疊点調節剤は、ナノ粒子表面に吸着している表面改質剤の疊点を上昇させる。このように、表面改質剤は、オートクレーブ滅菌に用いられる温度ではナノ粒子の表面から解離しない。それゆえ、こうして改質されたナノ粒子は滅菌工程の際に

凝集しないので、滅菌後にもその約400nm未満の有効平均粒径が保持される。

【0031】イオン性疊点調節剤は、ナノ粒子懸濁液の全重量に対して、0.005~20重量%、好ましくは0.01~15重量%、より好ましくは0.05~10重量%の量で存在することができる。

【0032】等張とは、溶液の浸透圧をさす。個体の血流中へ投与される溶液は、典型的には、その溶液の浸透圧が血液の浸透圧と等しくなるように調製される。この10ような溶液を等張性であるといふ。

【0033】等張維持性化合物は、溶液を等張性にするように溶液を維持または変性するための化合物である。このような等張維持性化合物は、本発明の組成物を含有する溶液の浸透圧を調整して、等張液を提供または維持する。

【0034】等張維持性化合物の例として、マンニトール、デキストロース、塩化ナトリウム、塩化カリウム、リンガーのラクテート、等が挙げられる。好ましい等張維持性化合物には、マンニトール及びデキストロースが含まれる。

【0035】溶液のpH値も重要な因子である。典型的には、pH値は、酸性すぎてもアルカリ性すぎてもならない。溶液のpH値を維持するために、pH値維持性化合物を用いることが好ましい。これらの化合物は、溶液に緩衝能を付与し、保存中や後の処理の際に溶液のpHが極端にならないようにする。

【0036】pH維持性化合物の例として、トリス塩基、HEPES、炭酸塩、リン酸塩、酢酸塩及びクエン酸塩といった周知の緩衝剤が挙げられる。好ましい緩衝剤はリン酸ナトリウム(一塩基性もしくは二塩基性または両方)である。

【0037】本発明は、表面改質剤が表面に吸着しており且つアニオニン性またはカチオニン性の疊点調節剤が組み合わされて含まれているナノ粒子の製造方法であって、該ナノ粒子と該疊点調節剤とを、該表面改質剤の疊点を上昇させるに十分な時間及び条件下で接触させる工程を含む製造方法についても開示する。

【0038】本法は、本明細書の別の箇所に記載したように、治療用または診断用のナノ粒子の調製と、そのようなナノ粒子をイオン性疊点調節剤と接触させることを包含する。接触工程は、ナノ粒子の懸濁液と疊点調節剤の溶液とを混合する方法によって行う。好ましい実施態様では、その後、そのナノ粒子懸濁液を十分に滅菌する温度及び時間で滅菌する。好ましい滅菌方法は蒸気オートクレーブ滅菌法である。

【0039】

【実施例】以下の実施例は、本発明をさらに例示するものであって、本明細書及び特許請求の範囲を限定するものと解釈すべきものではない。

【0040】実施例1:WIN-8883/チロキサボ

ール配合物

WIN-8883ナノ粒子懸濁液は、ほとんどが適当に負に帯電している。それゆえ、イオン性相互作用の結果、その粒子表面には、正に帯電している界面活性剤が非常によく結合する。WIN-8883はチロキサポール(3%)溶液中に非常によく分散する。しかしながら、チロキサポールの疊点は非常に低い(98°C)。この疊点を上昇させるために、各種のイオン性(カチオン性及びアニオニン性の両方)の疊点調節剤を使用した。

【0041】疊点測定結果を表1に示す。チロキサポールの疊点上昇には、ポリエチレングリコール(PEG)*

*またはプロピレングリコール(PG)のどちらも効果的ではない。チロキサポールの疊点上昇には、DOSS、SDS及びオレイン酸ナトリウムのようなアニオニン性界面活性剤が非常に有効である。また、チロキサポールの疊点上昇には、試験したカチオン性界面活性剤[ドデシルトリメチルアンモニウムプロミド(DTAB)及びテトラデシルトリメチルアンモニウムプロミド(TTAB)]も非常に有効である。TRISやリン酸塩のような塩類は、チロキサポールの疊点を低下させ、またリン酸塩の効果はTRISよりも強い。

【0042】

表1

チロキサポール(1%)の疊点に対するイオン性及び非イオン性添加剤の効果

添加剤	濃度	疊点(°C)
対照(無し)		94
PEG-400	10% (w/v)	105
	5%	100
	2%	96
プロピレングリコール	2%	98
SDS	0.5%	>131
	0.2%	>131
	0.1%	>131
	0.05%	127
	0.01%	115
DOSS	0.2%	>131
	0.1%	>131
	0.05%	>131
	0.01%	116
オレイン酸ナトリウム	0.5%	>131
	0.2%	>131
	0.05%	123
	0.01%	116
D TAB	0.5%	>131
	0.2%	131
	0.1%	122
	0.05%	114
TTAB	0.5%	>131
	0.2%	>131
	0.1%	>131
	0.05%	>131
	0.01%	110
リン酸ナトリウム、pH 6.5	4 mM	93
	10 mM	92
TRIS緩衝液、pH 7.5	10 mM	93
ジアトリソ酸	0.1%	124
	0.33%	128
タウロデオキシコレート	0.1%	123
	0.2%	129

結果は、疊点調節剤として少量のイオン性界面活性剤

【0043】実施例2: WIN-8883/チロキサポールの粒径

50 (アニオニン性またはカチオン性)を配合すると、WIN

II

-8883/チロキサポール系ナノ粒子懸濁液の粒径が、121℃、20分のオートクレーブ処理後も変化しないことを示している。これらの結果を表2に示す。

【0044】これらの結果は、チロキサポールの疊点に対する疊点調節剤の効果と一致している。疊点を上昇させるもの(SDS、DOSS、DTAB、CTAB)は*

12

*強力な安定化作用を示したが、疊点にはほとんどまたはまったく影響を与えないもの(PEG)は、安定化作用をまったく示さなかった。

【0045】また、低濃度の緩衝剤(リン酸塩またはTRIS)を添加しても大きな悪影響はないようである。

【0046】

表2

ナノ粒子懸濁液に対するイオン性界面活性剤の安定化作用
(15%WIN-8883/3%チロキサポール)、pH4.2

添加剤	オートクレーブ滅菌 121℃/20分間	平均粒径	
		(nm)	多分散度
無し	無し	158	0.102
無し	実施	445	0.231
5%PEG-400	実施	453	0.246
10%PEG-400	実施	507	0.197
10%PEG +			
0.5%DTAB	実施	237	0.134
0.5%DTAB	実施	209	0.182
0.3%DTAB	実施	245	0.178
0.2%DTAB	実施	250	0.179
0.3%TTAB	実施	295	0.209
0.5%SDS	実施	185	0.115
0.3%SDS	実施	188	0.135
0.2%SDS	実施	185	0.131
0.1%SDS	実施	190	0.134
0.5%DOSS	実施	176	0.158
0.3%DOSS	実施	190	0.116
0.2%DOSS	実施	188	0.136
10mMリン酸ナトリウム緩衝液(pH6.65)を含む場合			
無し	実施	406	0.187
0.2%DTAB	実施	350	0.117
0.2%DOSS	実施	185	0.137
0.1%SDS	実施	179	0.155

【0047】実施例3:チロキサポールの疊点分析

チロキサポールの疊点に対する各種緩衝剤及び各種界面活性剤の効果を測定するため、以下の一般方法論を採用した。まず、5ミリリットルの処理済Wheatonバイアルを使用して、試験すべき添加剤の量を秤量して各バイアルへ入れた。次いで、2.0mlの1%チロキサ

ポール原液を各バイアルへ添加した。その後、バイアルをPEG-400浴中に入れて、その温度をゆっくりと上昇させて溶液が疊るのを観察した。これらの実験結果を表3に示す。

【0048】

表3

チロキサポール(1%)の疊点測定

添加剤	疊点(℃)	疊点の上昇
無し	95	0
10%PEG-400	105	10
5%PEG-400	100	5
0.5%SDS	>131	>36
2%プロピレングリコール	98	3
0.2%DTAB	131	36
0.5%DTAB	>131	>36
0.5%TTAB	>131	>36

13

0. 5%オレイン酸ナトリウム
0. 5%DOSS

【0049】実施例4：EEDAナノ粒子の粒径に対するSDS及びDOSSの効果

実施例3にあるように、特定の体積のDOSSまたはSDS原液(3%チロキサポール中)をナノ粒子溶液へ加*

14

>131 >36
>131 >36

*えることによって、DOSS及びSDSの試料を調製した。表記のように121℃の蒸気オートクレーブで試料をオートクレーブ処理した。結果を表4に示す。

【0050】

表4

WIN-8883/チロキサポール系ナノ粒子懸濁液の粒径分析

試料：15%WIN-8883、3%チロキサポール

平均粒径：159nm

121℃で20分間オートクレーブ処理

添加剤	平均粒径(nm)	多分散度
無し	445	0.231
0.05%SDS	376	0.1
0.1%SDS	186	0.129
0.04%DOSS	415	0.183
0.1%DOSS	189	0.125

【0051】実施例5：WIN-8883ナノ粒子の安定性に対する安定剤及び等張維持性化合物の効果

実施例3に記載したように、WIN-8883/チロキサポールのナノ粒子懸濁液において、イオン性疊点調節

剤及び等張維持性化合物の添加を試験した。結果を表5に示す。

【0052】

表5

オートクレーブ滅菌時のWIN-8883ナノ粒子に対するイオン性界面活性剤の安定化効果(すべての試料は121℃、20分のオートクレーブ処理を施した)。

試料：15%WIN-8883、3%チロキサポール、pH6.0+2.5%グリセロール

添加剤	平均粒径(nm)	多分散度
0.2%DOSS	181	0.22
0.2%DOSS	184	0.17
0.2%SDS	186	0.16

試料：15%WIN-8883、3%チロキサポール、pH6.0+5%マンニトール

添加剤	平均粒径(nm)	多分散度
0.2%DOSS	183	0.19
0.2%SDS	186	0.13

試料：15%WIN-8883、3%チロキサポール、pH6.0+5%デキストロース

添加剤	平均粒径(nm)	多分散度
0.2%DOSS	182	0.17
0.2%SDS	187	0.18

【0053】

粒径分布に対するイオン性界面活性剤の安定化効果

試料：15%WIN-8883、0.93%チロキサポール

添加剤	121℃/20分	Z平均(nm)	多分散度
対照(添加剤無し)	無し	1577	0.362
対照(添加剤無し)	実施	1275	0.486

0.2%DOSS、

5%マンニトール 實施 471 0.31

試料：15%WIN-8883、2%チロキサポール

<u>添加剤</u>	<u>121℃/20分</u>	<u>Z平均(nm)</u>	<u>多分散度</u>
対照(添加剤無し)	無し	158	0.146
対照(添加剤無し)	実施	415	0.198
0.2% SDS、			
5% マンニトール	実施	170	0.142
0.2% DOSS	実施	170	0.157
0.2% SDS	実施	168	0.083
0.2% SDS、			
5% デキストロース	実施	170	0.098
0.2% DOSS、			
5% マンニトール	実施	174	0.085
0.2% DOSS、			
5% デキストロース	実施	169	0.139
0.1% SDS	実施	180	0.139
0.1% DOSS、			
5% マンニトール	実施	184	0.147
0.1% SDS、			
5% マンニトール	実施	187	0.135
0.1% DOSS	実施	183	0.087
0.2% SDS、			
5% デキストロース	実施	180	0.159
0.2% DOSS、			
5% デキストロース	実施	180	0.096

試料：15% WIN-8883、3% チロキサポール

<u>添加剤</u>	<u>121℃/20分</u>	<u>Z平均(nm)</u>	<u>多分散度</u>
対照(添加剤無し)	無し	143	0.06
対照(添加剤無し)	実施	452	0.167
0.2% DOSS、			
5% デキストロース	実施	168	0.138
0.2% SDS、			
5% マンニトール	実施	169	0.153
0.2% DOSS	実施	168	0.108
0.2% SDS、			
5% デキストロース	実施	169	0.12
0.2% SDS	実施	163	0.159
0.2% DOSS、			
5% マンニトール	実施	169	0.126

【0054】特別な実施態様及び実施例を含む上記の明細書は、本発明を例示するものであって、これを限定するものと解釈すべきではない。本発明の真正な精神及び

範囲を逸脱することのない多くの別の変更及び修飾を行うことは可能である。